



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

| | | |
|---|-----------|--|
| <p>(51) 国際特許分類6 C07B 61/00, G06F 17/50, 17/30</p> | <p>A1</p> | <p>(11) 国際公開番号 WO97/24301</p> <p>(43) 国際公開日 1997年7月10日(10.07.97)</p> |
| <p>(21) 国際出願番号 PCT/JP96/03866</p> <p>(22) 国際出願日 1996年12月27日(27.12.96)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平7/342488 1995年12月28日(28.12.95)</p> <p>(71) 出願人：および (72) 発明者 板井昭子(ITAI, Akiko)[JP/JP] 〒113 東京都文京区本郷5-16-6 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者：および (75) 発明者／出願人（米国についてのみ） 首藤紘一(SHUDO, Koichi)[JP/JP] 〒168 東京都杉並区下高井戸5-9-18 Tokyo, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 今村正純, 外(IMAMURA, Masazumi et al.) 〒103 東京都中央区八重洲一丁目8番12号 藤和八重洲一丁目ビル7階 Tokyo, (JP)</p> | | <p>(81) 指定国 AU, CA, CN, IL, JP, KR, NO, NZ, PL, SG, UA, US, VN, ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p> |
| <p>(54)Title: PREPARATION METHOD OF PHYSIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUND</p> <p>(54)発明の名称 生理活性化合物の創製方法</p> <p>(57) Abstract A computerized preparation method of a physiologically active compound, comprising the following steps: (1) generating a compound data base storing molecular structures covering all the combinations of at least one substitution site selected from modifiable sites existing on a basic molecular skeleton and utilizable substituents; and (2) retrieving a molecular structure satisfying the condition necessary for exhibiting physiological activity from the compound data base.</p> | | |

(57) 要約

コンピューターを用いた生理活性化合物の創製方法であって、下記の工程：

- (1) 基本分子骨格上に存在する修飾可能部位から選択された1又は2以上の置換部位と利用可能な置換基との全ての組み合わせを網羅した分子構造が収納された化合物データベースを作成する工程、及び
- (2) 生理活性を発揮するために必要な条件を満たす分子構造を該化合物データベースから抽出する工程を含む方法。

BEST AVAILABLE COPY

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願をパンフレット第一頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

| | | | | | | | |
|----|-----------|----|-------------|----|-------------|----|------------|
| AL | アルバニア | EE | エストニア | LR | リベリア | RU | ロシア連邦 |
| AM | アルメニア | ES | スペイン | LS | レソト | SD | スーダン |
| AT | オーストリア | FI | フィンランド | LT | リトアニア | SE | スウェーデン |
| AU | オーストラリア | FR | フランス | LU | ルクセンブルグ | SG | シンガポール |
| AZ | アゼルバイジャン | GB | イギリス | LV | ラトヴィア | SI | スロヴェニア |
| BB | バルバドス | GE | グルジア | MC | モナコ | SK | スロバキア共和国 |
| BE | ベルギー | GR | ギリシャ | MD | モルドバ | SN | セネガル |
| BG | ブルガリア | GH | ガーナ | MG | マダガスカル | SZ | スワジランド |
| BJ | ベナン | GN | ギニア | MK | マケドニア旧ユーゴスラ | TD | チャド |
| BR | ブラジル | GU | グアム | ML | マリ | TG | トーゴ |
| BY | ベラルーシ | HE | ハンガリー | MN | モンゴル | TJ | タジキスタン |
| CA | カナダ | IE | アイルランド | MR | モーリタニア | TM | トルクメニスタン |
| CC | 中央アフリカ共和国 | IS | アイスランド | MW | モザンビーク | TR | トルコ |
| CF | コンゴ | IT | イタリア | MX | メキシコ | TT | トリニダード・トバゴ |
| CH | スイス | JP | 日本 | NE | ニジェール | UA | ウクライナ |
| CI | コート・ジボアール | KE | ケニア | NL | オランダ | UG | ウガンダ |
| CM | カメルーン | KG | キルギスタン | NO | ノルウェー | US | 米国 |
| CN | 中国 | KP | 朝鮮民主主義人民共和国 | NZ | ニュージーランド | UZ | ウズベキスタン共和国 |
| CZ | チェコ共和国 | KZ | 大韓民国 | PL | ポーランド | VN | ベトナム |
| DE | ドイツ | KI | カリビアン諸国 | PT | ポルトガル | YU | ユーゴスラビア |

明 細 書

生理活性化合物の創製方法

技術分野

本発明は、コンピューターを用いて医薬や農薬に有用な生理活性化合物を創製する方法に関するものである。

背景技術

有用性の高い医薬や農薬を創製するためには、所望の生理活性を有することがすでに確認された種々の化学修飾の原点となるべきリード化合物の存在が必須である。しかしながら、リード化合物を創製する論理的な方法は従来知られておらず、一般的には、生体内に存在するホルモンや神経伝達物質等の生理活性物質、あるいはランダムスクリーニングによって所望の生理活性が見いだされた化合物をリード化合物として用いている。

一方、多くの生体高分子の立体構造がX線結晶解析法により解明されており、酵素阻害剤などの低分子化合物（リガンド）と生体高分子との複合体の立体構造も数多く報告されている。その結果、ある化合物が生理活性を有するためには、その化合物が標的生体高分子のリガンド結合領域にうまくフィットし、かつ、安定に結合できることが必須であるという自然法則が見いだされた。これらの知見を基にして、標的生体高分子のリガンド結合領域とある化合物との結合の可能性や結合の強弱をコンピューターで計算することにより、その化合物が生体高分子に結合して生理活性を発揮できるか否か、すなわちリガンドとして作用する可能性があるか否かを判断することが可能になりつつあり、論理的にリード化合物や生理活性化合物を創製する方法として注目されている。

コンピューターを用いた生理活性化合物の創製方法としては、生体高分子のリガンド結合領域に至適状態（例えば、最大の水素結合を与える状態）で結合する化合物を計算により自動構築する方法（構造自動構築法）と、既存データベースに収納された化合物群から生理活性を発揮するために必要な条件を満たす化合物

を抽出する方法（データベース法）が知られている。

構造自動構築法としては、例えば、西端らの方法（Nishibata, Y. and Itai, A., Tetrahedron, 47, pp. 8985-8990, 1991; Nishibata, Y. and Itai, A., J. Med. Chem., 36, pp. 2921-2928, 1993）が知られている。構造自動構築法の利点は、生理活性を有するために必要な条件を満たす望ましい構造を化合物の既知・未知にかかわらず広く提示できることにある。

データベース法としては、その生体高分子に結合することが既に知られている薬物の構造情報を用いて、該薬物と化合物との間で官能基やそれらの三次元的な位置関係などが一致しているか否かを判断して化合物の抽出を行う方法が知られている（例えば、ISIS-3D: MDL Information Systems, Inc.; UNITY: Tripos, Inc.; Chem-X: Chemical Design, Ltd.などのプログラムを用いる方法）。この方法は、標的生体高分子の立体構造情報が利用できない場合にも適用可能であり、汎用性が高いという特徴がある。

また、生体高分子のリガンド結合領域の三次元座標が利用できる場合には、さらに仮定や先入観が入らない信頼性の高いデータベース検索法が利用可能である。すなわち、本発明者らは、生体高分子とリガンド分子間の最安定複合体構造を自動的に推定する方法を開発しており（プログラム「ADAM」、PCT 国際公開 WO 93 20525; Yamada, M. et al., J. Mol. Biol., 243, pp. 310-326, 1994）、その方法を応用して、標的生体高分子のリガンド結合領域に対して安定に結合することが可能なリガンド化合物を三次元構造データベースから抽出する方法を完成している（プログラム「ADAM&EVE」、PCT 国際公開 WO 96 13785; 第24回構造活性相関シンポジウム, Mizutani, M. et al., 演題番号14-S20, 1996）。この方法は、結合様式とコンフォメーションの自由度を考慮するだけでなく、連続空間で捻れ角を最適化しつつ、複合体のエネルギー安定性によって、データベースから所望のリガンド化合物を高速検索できるという特長を有している。

また、標的生体高分子と結合すると確認または推定されるリガンド構造の基本分子骨格が利用できる場合には、トポロジーを利用した高速なデータベース検索法（プログラム「EUREKA」、PCT JP96 03325）を利用することができる。この方法では、基本分子骨格の生体高分子への結合様式とコンフォメーションに基

づいて、該生体高分子のリガンド結合領域に結合可能な誘導体または構造類似分子（アナログ）をデータベースから検索することができる。

上記データベース検索法は、いかなる化合物群を収めたデータベースをも対象とすることができるが、入手可能な（市販または社内にある）化合物のデータベースを対象とする場合には、条件を満たしてヒットした化合物を合成することなしに容易に入手して生理活性を評価できるという利点を有している。既存の（報告された）化合物のみを集めたデータベースを用いれば、ヒットした化合物を合成しないで直ちに入手することは不可能かもしれないが、少なくともその化合物は存在可能であり、合成方法や物理化学的性質が既知であることが多いという利点を有している。

しかし、これらの入手可能化合物や既存化合物のデータベースに含まれる構造は、理論的に存在可能な天文学的な数の構造の一部にしかすぎず、構造に偏りがあったり、存在可能な構造の中での分布がまばらであったりするので、最大の生理活性を与えるはずの至適化学構造をもつ化合物が始めから含まれていないことが多い。このようなデータベースを利用すると、ヒットした化合物に活性があったとしても、その活性が弱いためにリードとして本来有望なはずの化合物が見落とされたり、ヒットした化合物の構造が至適構造から大きく乖離しているために改良に多大な労力と時間を要するという問題がある。

また、ある構造がリードとして知られており、あるいはランダムスクリーニングや上記の方法を用いてリードが見つかった場合に、化学修飾によって所望の生理活性を極限まで高めるための研究は、これまでは試行錯誤的に誘導体やアナログ化合物を多数合成することによることが多く、多大な労力と時間が必要であった。

一方、医薬の効率的開発のための実験的手法としては、官能基の種類と位置の可能性や複数の構造ユニットのつながり方の可能性などを網羅的に組み合わせた化合物群を、多種同時合成したり多種同時スクリーニングする方法が注目されている（コンビナトリアル法）。例えば、基本分子骨格上に存在する複数の修飾可能部位と複数の置換基との組み合わせ、あるいはペプチドのように2以上の構造ユニットからなる化合物について構造ユニットの種類と結合させる順序を変えた

化合物を組み合わせたに多数案出し、それらの化合物を数工程の同時操作によって一斉に合成し、さらには全ての化合物を同時に生理活性試験に供することが行なわれている (Gallop, M. A. et al., J. Med. Chem., 37, pp. 1233-1251, 1994; Burgess, K. et al., J. Med. Chem., 37, pp. 2985-2987, 1994)。こうした方法によれば、案出された組み合わせの中から該基本分子骨格を持ち最も生理活性の強い化合物を簡便に選択することができるので、リード創製と生理活性の至適化の過程とを同時に行なえるという特長がある。

発明の開示

本発明の目的は、生理活性化合物を効率的に創製する方法を提供することにある、コンピュータを用いて上記の問題を解決した方法を提供することにある。より具体的には、基本分子骨格に対して付加する官能基の種類や位置についての可能性、あるいは複数の構造ユニットの種類と結合順序の可能性を組み合わせたに網羅して案出した化合物群の中から適切な選択を行い、所望の生理活性にとって至適な化学構造を持つ化合物を抽出して示すことが本発明の目的である。

本発明者らは、多大な試行錯誤なしに所望の生理活性にとってできるだけ有利な至適化学構造に直接到達可能な方法を開発すべく鋭意努力した結果、上記の実験的コンビナトリアル手法のコンセプトを取り入れたデータベース作成法と本発明者らが開発してきたデータベース検索法とを組み合わせることにより、目的を達することができた。すなわち、種々の基本分子骨格について修飾可能な部位と置換基との組み合わせ、あるいは複数の構造ユニットの組み合わせを網羅した化合物群の三次元構造データベースをコンピュータで作成し、そのデータベースを用いて上記データベース法での検索を行うと、極めて効率的に生理活性化合物の創製を行うことができることを見いだした。この方法を採用すると、化学合成による従来のコンビナトリアル法では到底実現不可能な莫大な数の化合物を含むデータベースを対象として検索を行うことができるので、一回の検索によって最大の生理活性を有する化合物を選抜することが可能である。本発明はこれらの知見に基づいて完成された。

すなわち、本発明は、コンピュータを用いた生理活性化合物の創製方法であ

って、下記の工程：(1) 基本分子骨格上に存在する修飾可能部位から選択された1又は2以上の置換部位と利用可能な置換基との全ての組み合わせを網羅した分子構造が収納された化合物データベースを作成する工程、及び(2) 生理活性を発揮するために必要な条件を満たす分子構造を該化合物データベースから抽出する工程を含む方法を提供するものである。本明細書において「生理活性化合物の創製」という用語は、新規リード化合物の作出、新規リード化合物の作出と作出されたリード化合物の最適化、既知リガンド化合物の分子骨格を利用した新規リード化合物の最適化など、生理活性を有する化合物の作出及び最適化などの概念を包含するように、最も広義に解釈される必要がある。

上記(1)の工程において、基本分子骨格としては置換基の交換、追加、削除などの構造修飾が可能な分子構造であればいかなるものを用いてもよいが、所望の生物活性を有することが確認若しくは予想されたりガンドの基本構造の全部若しくは一部、又は合成若しくは合成的構造修飾が困難でない分子構造を用いるのが好適である。所望の生物活性を有することが確認された既知リガンドの基本構造の例として、ベンゾジアゼピン骨格やバルビツレート骨格を挙げることができる。所望の生物活性を有すると予想されるリガンド構造としては、「LEGEND」や「ADAM&EVE」などの方法により作出または選択された分子構造を挙げることができる。合成及び合成的構造修飾が容易な分子骨格の例としては、修飾可能部位を有する1又は2以上の構造ユニットと1又は2以上のコネクターとを交互につなぐことにより作出される分子骨格があげられる。この場合、1又は2以上の種類の構造ユニットとコネクターとの組み合わせから網羅的に作出される1又は2以上の分子骨格から適宜選択して基本分子骨格としてもよい。

また、本発明の別の態様によれば、コンピューターを用いたデータベース検索法による生理活性化合物の創製方法に用いられる三次元データベースであって、基本分子骨格上に存在する修飾可能部位から選択された1又は2以上の置換部位と利用可能な置換基との全ての組み合わせを網羅した分子構造が収納されたデータベース；並びに、該データベースを格納した記憶媒体が提供される。このデータベースに含まれる分子構造の作出にあたって使用する基本分子骨格は、置換基の交換、追加、削除などの構造修飾が可能な分子構造であればいかなるものを用

いてもよく、具体的には上記に説明したものを用いることができる。

図面の簡単な説明

第1図は、化合物データベースから生理活性を有するリガンド候補化合物を抽出する方法としてプログラムADAM&EVEを用いる際のフローチャートを示す図である。図中、Sは各ステップを示す。

発明を実施するための最良の形態

本発明の方法の第一の工程は、基本分子骨格上に存在する修飾可能部位から選択される1又は2以上の置換部位と利用可能な置換基とをコンピューターを用いて網羅的に組み合わせ、その基本分子骨格に許容される全ての分子構造を作出して化合物データベースに収納する工程である。必要な場合には、予め組み合わせのための条件を設定し、その条件下において許容される全ての組み合わせを行って分子構造を作出することにより、計算機資源を有効に利用することができる。この工程により得られた網羅的な化合物データベースを対象として、生理活性発現のために必要な条件を満たす分子構造を抽出する（第二工程）ことが本発明の方法の特徴である。

データベースに収納される分子構造の作出は、例えば、以下の工程：

- (A) 分子構造を作出すべき1又は2以上の基本分子骨格を、既存の分子骨格又はそれらの類似分子骨格から選択するか、又は組み合わせ的に作出する工程；
- (B) それぞれの基本分子骨格について、該基本分子骨格上に存在する1又は2以上の修飾可能部位の中から、置換基を導入すべき1又は2以上の置換部位を選択する工程；
- (C) 利用可能な置換基を指定し、必要に応じて、指定したそれぞれの置換基ごとに導入すべき最大個数を指定するか、又は置換部位と置換基との対応付けを行う工程；及び
- (D) 上記の工程(B)で選択した全ての置換部位と上記工程(C)で指定した全ての置換基について全ての可能な組み合わせを網羅し、ただし、上記工程(C)において任意条件が設定されている場合にはその範囲内で全ての可能な組み合わせを網羅し

て、化合物の分子構造を作出する工程；

に従って行うことができる。

工程(A)において、基本分子骨格は、所望の生物活性を有する既知リガンドの基本構造、例えば、ベンゾジアゼピン骨格、バルビツレート骨格、尿素骨格、フェノチアジン骨格、ブチロフェノン骨格、キサンチン骨格、フェネチルアミン骨格、モルヒネ骨格、プロスタグランジン骨格、ステロイド骨格、ペニシリン骨格、セファロスポリン骨格、キノロンカルボン酸骨格、テトラサイクリン骨格、又はそれらの類似分子骨格、例えばホモログ体など、医薬や農薬の分子骨格として当業者にすでに利用可能なものから適宜選択することが可能である。

また、工程(A)において、基本分子骨格自体を組み合わせ的に作出してもよい。このような方法として、例えば、修飾可能部位を有する1又は2以上の構造ユニットと1又は2以上のコネクターとを網羅的に組み合わせる方法を採用することができる。例えば、基本分子構造の作出を以下の工程で行ってもよい。

また、工程(A)において、基本分子骨格自体を組み合わせ的に作出された1又は2以上の分子骨格から適宜選択して用いてもよい。このような分子骨格の作出方法として、例えば、修飾可能部位を有する1又は2以上の構造ユニットと各構造ユニット間を結合する1又は2以上のコネクターとを網羅的に組み合わせる方法を採用することができる。例えば、分子骨格の作出を以下の工程で行なってもよい。

(E) 利用可能な構造ユニットの中から1又は2以上の構造ユニットを選択する工程；

(F) 各構造ユニットについて、1分子構造中での使用回数の制限、隣接した結合を許容するか否か、末端にのみ使用するか否か、などの使用条件を必要に応じて付加する工程；

(G) 利用可能なコネクターの中から1又は2以上のコネクターを選択する工程；

(H) 結合すべき構造ユニットの数の上限及び下限を設定し、上記の工程(E)と工程(G)で選択した全ての構造ユニット及びコネクターについて、全ての可能な組み合わせを網羅して1又は2以上の基本分子骨格を作出する工程（ただし、上記の工程(F)において構造ユニットの1又は2以上について使用条件が設定されている場合にはその範囲内で全ての可能な組み合わせを網羅する）。

従来、コンピューターを用いたデータベース法による生理活性化合物の創製方法に用いられるデータベースは既存の利用可能なものに限定されており、上記のような化合物データベースを人為的に作成してデータベース法の検索に用いた例は知られていない。従って、本発明の上記化合物データベースは新規である。化合物データベースを格納すべき記憶媒体は、データベースの情報を確実に記憶させることができ、かつ、必要時にその情報を読みだすことができるものならば特に限定されない。例えば、磁気テープ、ハードディスク、フレキシブルディスク、又はCD ROMなど当業者に利用可能な記憶媒体を採用することができる。

なお、化合物データベースの作成方法は上記のものに限定されることはなく、基本分子骨格の修飾可能部位から選択された置換部位と指定された置換基との全ての組み合わせを網羅したものであれば、いかなる方法により作成されたものも本発明の範囲に包含される。上記の化合物データベースの作成方法は例示として理解されるべきであり、目的に応じて適宜の改変や修飾が可能であることは当業者に容易に理解されよう。

本発明の方法の第二の工程は、上記の化合物データベースから、生理活性を発揮するために必要な条件を満たす化合物を抽出する工程である。この抽出工程もコンピューターで行われるが、そのアルゴリズムとしては、生理活性を発揮するために必要な条件を満たす化合物を抽出する方法として利用可能なものであればいかなるものを用いてもよい。

化合物の抽出方法としては、例えば、既に所望の生理活性を有することが知られた薬物の化学構造を基にして、その薬物に存在する官能基のうち生理活性の発現に必須と考えられるものを選択し、その薬物の基本分子骨格と選択された官能基との三次元的位置関係を、化合物データベース中の分子構造の三次元構造情報と重ね合わせるにより、既知薬物と該分子構造との類似性を判断する方法を用いることができる。このような重ね合わせ法として、例えば、ISIS-3D (MDL Information Systems, Inc.)、UNITY (Tripos, Inc.)、Chem-X (Chemical Design, Ltd.)などのプログラムが当業者に利用可能である。

また、別の抽出方法として、標的となる生体高分子のリガンド結合領域の三次元座標が利用できる場合には、プログラム「ADAM&EVE」を用いて、該リ

リガンド結合領域と分子構造との相互作用（例えば、水素結合、静電相互作用、ファンデルワールス相互作用等）から、生体高分子に結合可能な分子構造を抽出することが好適である。この方法の詳細は特願平6-267688号明細書に詳細に記載されているので、当業者は該明細書を参照することによって容易にこの方法を利用することができる。プログラム「ADAM&EVE」に従う分子構造の抽出は以下のようにして行うことができる。

上記化合物データベース中の分子構造の三次元座標に対して、水素結合性カテゴリ番号、分子力場計算用の情報および配座作成用の情報を用意する。水素結合性カテゴリ番号は、水素結合を形成しうる原子団についての識別用番号として用いられるものであり、その原子団中で直接水素結合に関与するヘテロ原子に対してそれぞれ付与される。番号によってその原子団の幾何学的構造及び水素結合の性質が特徴付けられ、その結合の相手となる水素結合性原子（ダミー原子）の位置を即座に作り出すことができる。

分子力場計算用の情報とは、分子力場を用いて分子内・分子間の相互作用エネルギーを計算するために各原子に与えられる番号や電子の状態のことであり、原子タイプ番号や原子電荷を含むものとして用いる。配座作成用の情報とは、結合回転可能な結合のねじれ角を変化させて異なる配座を系統的に作成するために用いるそれらのねじれ角の初期値・終値及び何度ずつ回転させるかの増分値のことであり、この情報は、1個の結合についてねじれ角を構成する4つの原子の入力順番とねじれ各の初期値、終値及び回転角とを含んでいる。

一方、標的生体高分子の三次元座標から、リガンド結合領域の物理化学的情報およびダミー原子を用意する。リガンド結合領域の物理化学的情報とは、リガンドが結合できる生体高分子の凹んだ領域の内部において生体高分子の全原子の及ぼすポテンシャル的影響をいい、リガンド結合領域内の三次元格子点の水素結合性（水素受容性又は水素供与性）、その三次元格子点にプローブ原子を置いたときに生体高分子とプローブ原子との間に働くファンデルワールス相互作用エネルギーおよび静電相互作用エネルギーを含む概念である。ダミー原子は、生体高分子中の水素結合性官能基の水素結合の相手となり得るヘテロ原子の位置に設定すればよい。

つぎに、上記化合物データベース中の分子構造の三次元座標に対して用意した水素結合性カテゴリー番号、分子力場計算用の情報及び配座作成用の情報、並びに、上記のリガンド結合領域の物理化学的情報を基にして、試行分子構造の配座を変化させながら生体高分子と該分子構造とをドッキングさせて複合体の構造を作成し、生体高分子と試行分子構造との間の相互作用を評価して複合体の最安定構造の探索を行う。ドッキングは、あるリガンド化合物の分子とある生体高分子との複合体を形成させること及び／又は両者の安定複合体構造を探ることを含む概念であり、一般的には、分子模型を用いる方法、コンピューターとコンピューター・グラフィックスとを用いたシュミレーション手法、又は自動ドッキング法等を用いて行うことができる。

生体高分子と試行分子構造から形成される複合体の最安定構造の探索を行うには、例えば、以下の方法を利用することができる。

- (1) ダミー原子と試行分子構造中の水素結合性ヘテロ原子との対応づけを組合せ的に網羅して、生体高分子－分子構造間の有利な結合様式を網羅し；
- (2) 試行分子構造の配座を系統的に変化させながらダミー原子間の距離と水素結合性ヘテロ原子間との距離を比較することにより、生体高分子－試行分子構造間の可能な水素結合様式及び試行分子構造の水素結合性部分の配座を同時に推定し、及び
- (3) 工程(2) で得られた水素結合様式と配座毎に、試行分子構造中の水素結合性ヘテロ原子とダミー原子との対応関係に基づいて、試行分子構造の全原子の座標を生体高分子の座標系に置き換えることにより、生体高分子－試行分子構造の複合体構造を得る。

上記の工程(2) に続いて、以下の工程に従って探索を行ってもよい。この工程に従うと、生成させる配座の数を減少させても適切な複合体構造を選択することが可能になり、精度のよい安定複合体が得られる。

- (3) 工程(2) で得られた水素結合様式を保持しつつ、ダミー原子と試行分子構造中の水素結合性ヘテロ原子の位置が一致するように試行分子構造の配座を最適化し、次いで、分子内エネルギーの高い試行分子構造の配座を除去し；
- (4) 工程(3) で除去されなかった配座毎に、試行分子構造中の水素結合性ヘテロ原

子とダミー原子との対応関係に基づいて、試行分子構造の全原子の座標を生体高分子の座標系に置き換えることにより、生体高分子-試行分子構造の複合体構造を得；

(5) 工程(4) で得られた水素結合性部分の複合体構造から、試行分子構造中の水素結合性部分の分子内エネルギー及び生体高分子-試行分子構造中の水素結合性部分の分子間相互作用エネルギーの高い複合体構造を除去し、次いで、残った複合体構造について構造の最適化を行い；

(6) 工程(5) で得られた複合体構造毎に、試行分子構造の非水素結合性部分の配座を発生させて新たな試行分子構造全体を含む複合体構造を得；及び

(7) 工程(6) で得られた複合体構造から、試行分子構造全体の分子内エネルギー及び生体高分子-試行分子構造の分子間相互作用エネルギーの高い複合体構造を除去し、次いで、残った複合体構造について構造の最適化を行う。

また、生体高分子の構造や試行分子構造が複雑なる場合には、生体高分子-試行分子構造の安定複合体構造の探索を高速化するために、例えば、以下の方法を利用することもできる。

(1) ダミー原子と試行分子構造の部分構造中の水素結合性ヘテロ原子との対応づけを組合せ的に網羅して、生体高分子-試行分子構造間の有利な結合様式を網羅し；

(2) 試行分子構造の配座を系統的に変化させながらダミー原子間の距離と水素結合性ヘテロ原子間との距離を比較することにより、生体高分子-試行分子構造間の水素結合様式及び試行分子構造の部分構造の配座を同時に推定し、

(3) 工程(2) で得られた水素結合様式及び配座に基づいて、試行分子構造の部分構造中で不可能な水素結合様式を与えるダミー原子及び水素結合性ヘテロ原子の組合せと、ダミー原子と水素結合を形成し得ない水素結合性ヘテロ原子とを除き、ダミー原子と試行分子構造全体の水素結合性ヘテロ原子との対応づけを組合せ的に網羅して、生体高分子-試行分子構造間の有利な結合様式を網羅し；

(4) 試行分子構造の配座を系統的に変化させながら、ダミー原子間の距離と水素結合性ヘテロ原子間の距離とを比較して、生体高分子-試行分子構造間の可能な水素結合様式及び試行分子構造の水素結合性部分の配座を同時に推定し；及び

(5) 工程(4) で得られた水素結合様式と配座毎に、試行分子構造中の水素結合性ヘ

テロ原子とダミー原子との対応関係に基づいて、試行分子構造の全原子の座標を生体高分子の座標系に置き換えることにより、生体高分子-試行分子構造の複合体構造を得る。

上記の各方法において、水素結合性官能基とは、水素結合に関与することのできる官能基及び原子を含む概念であり、水素結合性ヘテロ原子とは、試行分子構造中に存在する水素結合性官能基を構成するヘテロ原子のことである。水素結合性部分とは、試行分子構造の部分構造のうち、ダミー原子と対応づけられる水素結合性ヘテロ原子を含む構造のことであり、非水素結合性部分とは、水素結合性部分以外の構造部分のことである。

また、標的生体高分子のリガンド結合部位の立体構造を利用した化合物データベースの検索プログラムとして「EUREKA」(PCT/JP96/03325 号明細書に開示された生理活性化合物の設計方法：上記明細書の開示を本明細書の開示として含める)を利用することもできる。プログラム「EUREKA」は、生体高分子に結合可能であることが確認または推定されたりガンド分子の構造と該生体高分子への結合様式とに基づいて、該生体高分子に結合する可能性のある化合物をデータベースから検索することができる方法である。本発明の方法において「EUREKA」を利用する場合は、データベース作成に用いた基本骨格構造もしくはそれに類似する構造を有する化合物の標的生体高分子への結合様式が既知または推定できる場合に、該化合物の全部または一部の構造を質問構造として検索を行えばよい。

この方法によるデータベース検索では、質問構造の生体高分子への結合様式とコンフォメーションが検索対象の化合物(試行分子)においても変わらないものとして扱い、質問構造に存在せず試行分子に存在する置換基のコンフォメーションのみを変化させながら、該生体高分子と安定な複合体を形成できるかどうかを判定する。ヒットの基準は上記のプログラム「ADAM&EVE」と同様に設定することができる。プログラム「EUREKA」による検索方法は、質問構造とデータベース化合物の構造との間で共通する部分の結合様式及びコンフォメーション自由度を探索する必要がないので、検索を極めて高速に行えるという特長がある。この検索方法は、分子骨格そのものが多様性に富んだ化合物群のデータベ

ス検索には必ずしも適切でない場合もあるが、少数の基本分子骨格に基づいて官能基の種類や位置だけを変化させて作出された化合物データベースの検索には非常に好適に用いることができる。

以上の方法によって探索した最安定複合体構造における生体高分子と試行分子構造との相互作用エネルギーの値に基づいて、該分子構造をリガンド候補化合物として選択するか否かを判定を行い、その後、化合物データベースに収納された全ての分子構造について最安定複合体構造の探索とリガンド候補化合物として選択するか否かの判定とを繰り返すことにより、化合物データベースから標的生体高分子に結合可能なリガンド候補化合物を抽出することができる。

実施例

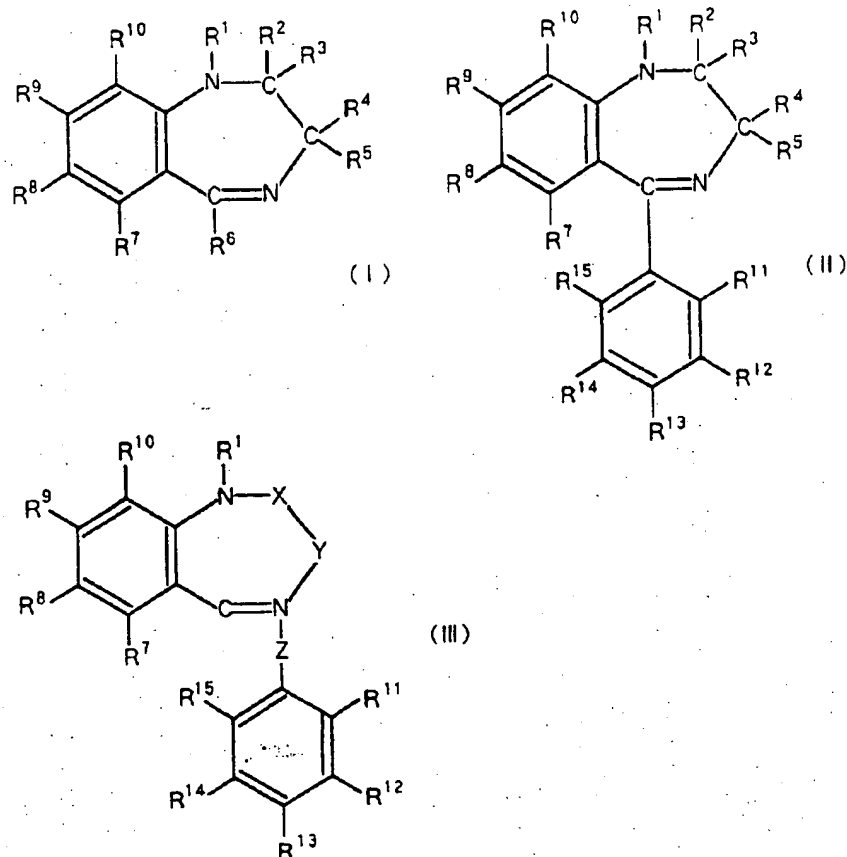
以下、第二工程にプログラム「ADAM&EVE」を用いた本発明の好ましい態様について、実施例によりさらに具体的に説明する。

まず、化合物データベース作成のために、作出すべき分子構造の基本構造となる1又は2以上の基本分子骨格を選択する。基本分子骨格としては、所望の生理活性を有することが知られている医薬や農薬の分子骨格を利用することができる。例えば、ベンゾジアゼピン骨格、バルビツレート骨格、尿素骨格、フェノチアジン骨格、ブチロフェノン骨格、キサンチン骨格、フェネチルアミン骨格、モルヒネ骨格、プロスタグランジン骨格、ステロイド骨格、ペニシリン骨格、セファロsporin骨格、キノロンカルボン酸骨格、テトラサイクリン骨格などを利用することができるが、上記のものに限定されず、医薬や農薬の分子骨格として当業者に知られたものならばいかなるものを用いてもよい。これらのうち、三次元座標などの構造情報が利用可能な分子骨格を基本分子骨格として用いることが好ましい。

つぎに、工程(B)では、それぞれの基本分子骨格について、該基本分子骨格上に存在する1又は2以上の修飾可能部位の中から置換基を導入すべき1又は2以上の置換部位を選択する。例えば、下記の式(1)で示されるベンゾジアゼピン骨格を例にとって説明すると、7員環のジアゼピン環には(4位の窒素原子におけるN-オキシド基の可能性を無視した場合に)6ヶ所の修飾可能部位が存在してお

り ($R^1 \sim R^6$)、ジアゼピン環と縮合したベンゼン環には4ヵ所の修飾可能部位が存在する ($R^7 \sim R^{10}$)。従って、ベンゾジアゼピン骨格には全部で10ヵ所の修飾可能部位が存在しており、これらの修飾可能部位の全てに置換基を導入したい場合には置換部位として $R^1 \sim R^{10}$ の全てを選択すればよい。例えば、ベンゼン環上の R^7 、 R^9 及び R^{10} に置換基導入を望まない場合には、これらの10ヵ所の修飾可能部位のうち、 $R^1 \sim R^6$ 及び R^8 を置換部位として選択することができる。選択しなかった R^7 、 R^9 及び R^{10} には必要に応じて水素原子を当てはめておくことが可能である。

また、式(I)で示されるベンゾジアゼピン骨格において R^6 を置換又は無置換のフェニル基とする場合には、基本分子骨格を式(II)の骨格として、 $R^1 \sim R^5$ 、 $R^7 \sim R^{10}$ 及び $R^{11} \sim R^{15}$ の修飾可能部位の中から置換基を導入すべき1又は2以上の置換部位を選択すればよい。また、ベンゾジアゼピン骨格の環を構成する原子を種々選択するような場合や、上記式(I)で示される骨格において R^6 としてフェニル置換アルキル基などを選択する場合には、式(III)に従って基本分子骨格を組み合わせた的に作出することも可能である。例えば X を CR^2R^3 、 NR^2 、 O 又は S ； Y を CR^4R^5 、 NR^4 、 O 又は S から選択し、かつ、 Z を C_{1-6} アルキレン基、 NR^{16} 、 O 又は S から選択するように組み合わせを行うことにより、基本分子骨格の組み合わせを作出することが可能である。



その後、利用可能な置換基の指定を行うが、置換基としては、例えば、炭素数 1 ないし 12 のアルキル基、炭素数 1 ないし 12 のアルコキシ基、フェニル基、ピリジル基、カルボキシ基、アルキルエステル基、水酸基、カルボニル基（オキソ基）、ハロゲン原子、アミノ基、カルバモイル基、ヒドロキシアルキル基、ニトロ基、スルホン酸基などを例示することができる。もっとも、置換基はこれらに限定されることはなく、いかなる種類の置換基を指定してもよい。

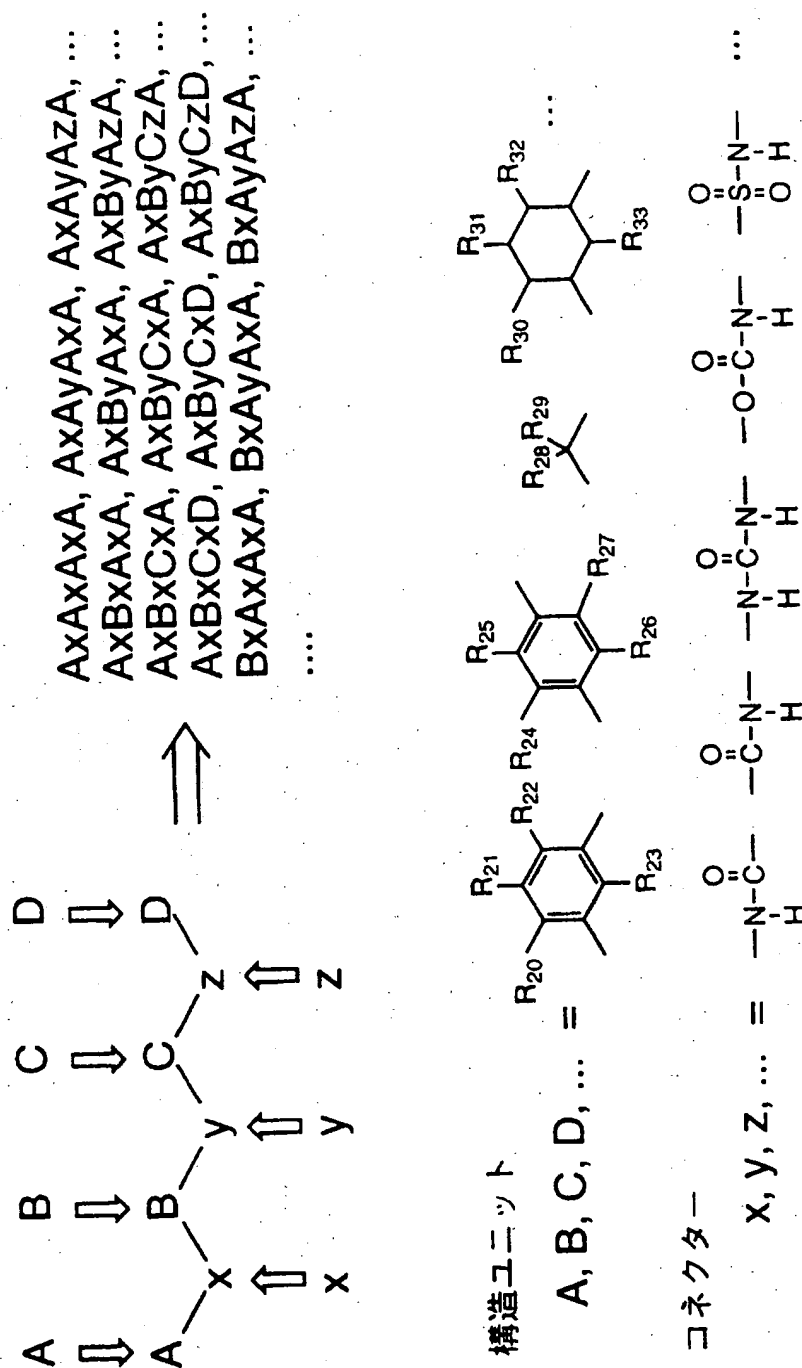
例えば、利用可能な置換基として「炭素数 1 ないし 12 のアルキル基」を指定する場合、炭素数 12 以下の条件を満足する全てのアルキル基（直鎖状、分枝鎖状、環状及びそれらの組み合わせ）を予め作出し、置換基群として収納しておくことが望ましい。また、例えば、ピリジル基を置換基として指定する場合には、置換位置として o-、m-、及び p- のいずれをも含むような置換基群として利用することが望ましい。

上記の工程では、必要に応じて、指定したそれぞれの置換基（又は置換基群）ごとに導入すべき最大個数を指定することが可能である。このような指定の例と

しては、作出する分子骨格に導入される水酸基の総数が3個以下となるような指定；あるいは、作出する分子骨格に導入されるフェニル基の総数を2個以下、アミノ基を4個以下、及び／又は炭素数1ないし12のアルキル基を3個以下となるような指定を例示することができる。

また、必要に応じて、特定の置換部位と特定の置換基（又は置換基群）との対応付けを行うことも可能である。例えば、上記（I）式のベンゾジアゼピン骨格において $R^1 \sim R^5$ 及び R^7 を置換部位として選択した場合、 R^7 についてはハロゲン原子（フッ素原子、塩素原子、臭素原子及びヨウ素原子を含む置換基群）のみから選択するような対応付けを行うことができる。なお、オキシ基($O=$)などの2価以上の置換基を指定に含める場合には、それらの置換基が置換可能な置換部位を予め対応付けしておくことが望ましい。例えば、上記ベンゾジアゼピン骨格においては、オキシ基が置換可能な部位として R^2 及び R^3 と R^4 及び R^5 の2ヶ所に対応付けが可能である。あるいは、オキシ基を利用するにあたり、基本分子骨格中にオキシ基を含めて別の基本分子骨格を用意しておいてもよい。

基本分子骨格を組み合わせた的に作出する別の例として、例えば、以下のような組み合わせを行うことができる。



まず、4個の構造ユニット(A~D)及び該構造ユニットを連結する3個のコネクター(x~z)を用い、構造ユニットとコネクターとの組み合わせによる分子構造を作出する。つぎに、それぞれの分子骨格に存在する構造ユニットのそれぞれに利用可能な1又は2個以上のユニット(上記スキーム中、 $R^{20} \sim R^{23}$ が結合したm-フェニレン基、 $R^{24} \sim R^{27}$ が結合したp-フェニレン基、 R^{28} 及び R^{29} が結合したメチレン基、又は $R^{30} \sim R^{33}$ が結合したシクロヘキサンジイル基など)、及びコネクターとして

利用可能な結合基（上記スキーム中のアミド基、尿素基など）を選択する。その後、該ユニットと結合基の全ての組み合わせを網羅して、基本分子骨格を作出する。

続いて、選択した全ての置換部位と指定した全ての置換基（又は置換基群）とについて、全ての可能な組み合わせを網羅し、組み合わせ総数に相当する数の分子構造を作出する。置換基群については、置換基群に含まれる全ての要素について全ての置換部位との組み合わせを作成する必要がある。置換基（又は置換基群）の数の上限が設定されている場合、及び／又は置換基（又は置換基群）と置換部位との対応付けが設定されている場合には、その範囲内の全ての可能な組み合わせを網羅する。

作出すべき分子構造の数は特に限定されないが、データベース法での検索により効率的かつ高精度に検索が行えるように、例えば数万～数百万程度の分子構造を作出することが好ましい。なお、置換基（又は置換基群）の代表的なものを利用して数万～数十万程度の分子構造を作出し、それらを含む化合物データベースを用いて第二工程（抽出工程）を行うことにより生理活性の発現に必要な置換基（又は置換基群）を選出し、さらにその置換基（又は置換基群）について網羅的な組み合わせを含むデータベースを作出して、第二工程を行うことができる。このような繰り返しを含む方法も本発明の範囲に包含される。

第二工程の抽出方法としてプログラム「ADAM&EVE」（特願平6-267688号）を用いるために、作出された分子構造の三次元構造情報を化合物データベースに収納する（S1）。基本分子骨格の三次元座標情報が利用可能な場合には、その三次元情報を基にして作出された分子構造の三次元座標を算出すればよいが、三次元座標情報が利用できない場合には、例えば、CONCORD (TRIPOS Associates Inc.) ; CONVERTER (BIOSYM/MSI Inc.) ; 及び CORINA (Sadowski, J. and Gasteiger, J., Chem. Rev., 93, pp. 2567-2581, 1993)の方法によって三次元座標を算出すること可能である。分子構造の原子座標が表す立体構造については、原子間の結合距離、結合角等の幾何学的な量が正確であれば、基本的には配座を問題とする必要はないが、分子構造を構成する各原子の電荷をできるだけ正確に算出するためには、ある程度単独で安定な立体構造を与える原子座標を入力するこ

とが好ましい。

以下、プログラムADAM&EVE（特願平6-267688号明細書に記載の方法）に従い、生理活性発現のための条件として標的生体高分子のリガンド結合領域に結合するか否かを用いて、標的生体高分子のリガンド結合領域に結合可能な分子構造（リガンド候補分子構造）を化合物データベースから抽出する方法を具体的に説明する。図1中のSは各ステップを示しており、ADAMは、国際公開W093/20525号明細書（国際公開日1993年10月14日）に開示された生体高分子ーリガンド分子の安定複合体構造の探索方法を示す。なお、PCT 国際公開W093/20525号の開示及び特願平6-267688号明細書の開示を本明細書の開示に含める。

最初に、化合物データベースに収納された分子構造についてのADAM仕様三次元データベースを作成する（S1）。分子構造の三次元座標は、二次元座標を力場計算的に三次元座標に変換した座標、あるいは、基本分子骨格を有する化合物についての結晶データベースやエネルギー計算を基にしたモデルビルディングから得られた立体構造等を基にして得た座標を利用すればよい。分子構造の原子座標が表す立体構造については、原子間の結合距離、結合角等の幾何学的な量が正確であれば、基本的には配座を問題とする必要はないが、分子構造を構成する各原子の電荷をできるだけ正確に算出するためには、ある程度単独で安定な立体構造を与える原子座標を入力することが好ましい。

分子構造の三次元座標を入力した後、必要な場合には水素原子を付加し、さらに各原子の原子タイプ番号、水素結合性ヘテロ原子の水素結合性カテゴリー番号、各原子の原子電荷、結合回転の様式（どの結合を回転させるか、あるいは何度から回転を始めて何度おきに回転させるか等）を自動的に付加することにより、三次元データベースを作成する。分子構造を構成する原子の原子タイプ番号は、例えばWeinerら(Weiner, S. J. et al., J. Am. Chem. Soc., 106, 1984, pp. 765-784)の行った番号付けを用いることができる。

分子構造中に存在する水素結合性ヘテロ原子の水素結合性カテゴリー番号は下記の表1に従って付加することができ（表中の左の数字は水素結合性カテゴリー番号を示す）、分子構造を構成する各原子の電荷は、例えば Gasteiger法、MOPAC プログラム中のMNDO法、AM1 法など用いた分子軌道法計算により算出することが

できる。結合回転の様式については、ねじれ回転可能な単結合を $60 \sim 120^\circ$ の一定の回転角で系統的に回転させる回転様式を指定することが好ましい。

表 1

| | |
|----|-----------------------|
| 1 | 第一アミンの sp^2 の N |
| 2 | 第一アミンの sp^3 の N |
| 3 | アンモニウムイオンの sp^3 の N |
| 4 | アミドの sp^2 の N |
| 5 | 第二アミンの sp^3 の N |
| 6 | 芳香族の N |
| 7 | プロトン化した芳香族の N |
| 8 | 第三アミンの N |
| 9 | プロトン化した第三アミンの N |
| 10 | C-O結合の回転可能なヒドロキシルの O |
| 11 | エーテルの O |
| 12 | カルボニルの O |
| 13 | カルボシキレートアニオンの O |
| 14 | カルボン酸の O |
| 15 | ホスフェートの O |
| 16 | 水分子の O |
| 17 | メルカプトの S |
| 18 | チオエーテルの S |
| 19 | 水素の位置が固定したヒドロキシの O |

つぎに、生体高分子を構成する原子の番号と原子座標（ただし、水素原子の原子座標は除く）を入力する（S 2）。生体高分子の原子座標は、X線結晶解析や NMR 解析により得られた立体構造の情報、蛋白質結晶データベース等から入手

可能な情報、あるいはこれらの情報を基にして構築された生体高分子モデルの原子座標などを用いることができる。生体高分子の原子座標は三次元座標系で表されることが好ましい。また、生体高分子に結合して構造的にも機能的にも重要な役割を果たす補因子を生体高分子の一部とみなして、該補因子を結合した状態の生体高分子の原子座標を入力して以後のステップを行ってもよい。このような補因子としては、補酵素、水分子、又は金属イオン等を挙げることができる。

上記ステップに続いて、生体高分子中に存在するアミノ酸残基を構成する水素原子の原子座標を算出する（S3）。一般に、生体高分子の水素原子の位置をX線結晶解析やNMR解析等の実験的手法で求めることは困難であり、また、蛋白質結晶データベース等からも水素原子に関する情報は入手できない。従って、生体高分子中に存在するアミノ酸残基の構造に基づいて、該アミノ酸残基を構成する水素原子の原子座標を算出する必要がある。回転可能なアミノ酸残基に結合しているためにその原子座標を一義的に決定できない水素原子は、トランス位に存在すると仮定して原子座標を算出することが好ましい。

その後、生体高分子中に存在するアミノ酸残基を構成する原子に電荷を付加し（S4）、生体高分子中に存在する水素結合性官能基を構成するヘテロ原子について水素結合性カテゴリー番号を付加する（S5）。電荷の値としては、各アミノ酸について算出されている文献値、例えば、Weinerの値（Weiner, S. J. et al., J. Am. Chem. Soc., 106, 1984, pp. 765-784）などを用いることができる。水素結合性カテゴリー番号は、上記の表1に従って付加すればよい。

つぎに、リガンド結合領域を指定する（S6）。リガンド結合領域としては、生体高分子の任意の部位を含む領域、好ましくは直方体の領域を選択することができる。目的に応じてリガンド結合ポケットやその周辺の生体高分子の部位を選択してもよく、必要に応じてエフェクター等の他の分子の結合する生体高分子の部位を含む領域を選択することも可能である。なお、リガンド結合ポケットとは、生体高分子の凹んだ分子表面にあり、基質や阻害剤などのリガンド分子が結合する内孔をいう。リガンド結合領域の範囲の指定には、例えばプログラムGREEN（Tomiooka, N. et al., Journal of Computer-Aided Molecular Design, 1, 1987, pp. 197-210）の機能の一部を利用することができる。

S 6 で指定した領域内に三次元格子点を発生させ、各三次元格子点につき番号付けと格子点情報の算出を行う (S 7)。三次元格子点とは、生体高分子のリガンド結合領域内の一定間隔毎に発生させる三次元格子上の点をいい、格子点情報とは、各三次元格子点上にプローブとなる原子があると仮定して算出した生体高分子とプローブ原子の間に働くファンデルワールス相互作用エネルギー及び静電相互作用エネルギー、並びに水素結合性等のリガンド結合領域の局所的な物理化学的情報を含む概念である。この三次元格子点の格子点情報を利用することにより、以後のステップで行う生体高分子と化合物データベース中の分子構造との分子間相互作用エネルギーの近似計算の高速化が、並びに、以後のステップで設定するダミー原子の位置を合理的に決定することが可能となる。その結果、生体高分子と分子構造とのドッキングモデルを短時間に網羅的に探索できる。

三次元格子点は、0.3 ～2.0 オングストローム、好ましくは、0.3 ～0.5 オングストロームの一定間隔で S 6 で指定した領域内に発生させることができる。プローブ原子としては、化合物データベースに収納された分子構造に含まれるすべての原子種を採用することが好ましい。各三次元格子点に配置した各プローブ原子と生体高分子との間に働くファンデルワールス相互作用エネルギーは、経験的なポテンシャル関数を用いて常法の原子対計算により算出することができる。経験的なポテンシャル関数としては、以下の式で表されるような Lennard-Jones type 関数を用いることができる。

$$G_{vdw, i} = \sum_j (A/r_{ij}^{12} - B/r_{ij}^6)$$

式中、i はプローブ原子の位置を示す番号；j は生体高分子の原子の番号を表し、A 及び B は極小のポテンシャルの位置と大きさを決定するパラメーターを表し； r_{ij} は i 番目に配置したプローブ原子と生体高分子の j 番目の原子との間の距離を表す。A 及び B のパラメーターとしては、例えば Weinerらの値 (Weiner, S. J. et al., J. Am. Chem. Soc., 106, 1984, pp. 765-784) を用いることができる。

分子構造をこの三次元格子点上に配置した際の分子構造－生体高分子間のファ

ンデルワールス相互作用エネルギーは、以下の式（式中、 m は分子構造中の原子の番号であり、 N は分子構造中の原子の数であり、 m_0 は m 番目の原子に最も近い三次元格子点の番号である）から算出することができる。

$$E_{vdw} = \sum_{m=1}^N G_{vdw, m_0}$$

各三次元格子点に配置した各プローブ原子と生体高分子との間に働く静電相互作用エネルギーは、以下の式（式中、 i 、 j 、及び r_{ij} は前記定義のとおりであり、 q_j は生体高分子の j 番目の原子の電荷を示し、 K はエネルギー単位を変換するための定数を示し、 ϵ は誘電率を示す）を用いて算出することができる。上記の誘電率としては一定の値を用いてもよいが、Warshelらが提案しているような r_{ij} に依存した値（Warshel, A., J. Phys. Chem., 83, 1979, pp.1640-1652）を用いることが好ましい。

$$G_{elc, i} = \sum_j K q_j / \epsilon r_{ij}$$

分子構造をこの三次元格子点上に配置した際の分子構造－生体高分子間の静電相互作用エネルギーは、以下の式（式中、 m 、 N 、及び m_0 は上記と同意義である）から算出することができる。

$$E_{elc} = \sum_{m=1}^N q_m G_{elc, m_0}$$

つぎに、三次元格子点の水素結合性を表す情報（水素結合性格子点情報）を付与する。この情報は、三次元格子点に、水素供与性の原子又は水素受容性の原子のうちいずれの原子が配置されれば生体高分子の水素結合性官能基と水素結合を形成し得るか、あるいはどちらの原子がその三次元格子点に配置されてもその原子が生体高分子の水素結合性官能基と水素結合を形成できる（または水素結合を形成できない）ことを示す情報である。例えば、水素受容性である三次元格子点に1、水素供与性である三次元格子点に2、両方の性質をもつ三次元格子点に3、

水素結合性のない三次元格子点に0の番号を付加することにより、三次元格子点の水素結合性を表すことができる。

三次元格子点の水素結合性は以下のようにして求めることができる。ある三次元格子点Pと生体高分子中に存在するある水素供与性原子Dとの間の距離DPが水素結合を形成し得る距離（例えば、2.5～3.1 オングストローム）であり、かつ、三次元格子点P、水素H、及び水素供与性原子Dがなす角度 $\angle DHP$ が水素結合を形成し得る角度（例えば、 30° 以上）であれば、この三次元格子点は水素受容性であると判定される。同様に、ある三次元格子点Pと生体高分子中に存在するある水素受容性原子Aとの間の距離PAが水素結合を形成し得る距離であり、かつ、三次元格子点P、孤立電子対L、及び水素受容性原子Aがなす角度 $\angle ALP$ が水素結合を形成し得る角度であれば、この三次元格子点は水素供与性であると判定できる。なお、ある三次元格子点が水素受容性でも水素供与性でもない場合には、水素結合性なしとして取り扱う。

その後、生体高分子中に存在する水素結合性官能基のうちS6で指定した領域内に存在する水素結合性官能基の中から、分子構造と水素結合を形成すると予想される水素結合性官能基を選択する（S8）。多数の水素結合性官能基が存在する場合には、その重要度に応じて選択することができる。さらに、S7で算出した三次元格子点の格子点情報に基づいて、S8で選択した各水素結合性官能基に対してダミー原子を設定する（S9）。

このステップでは、S7で算出した三次元格子点の水素結合性に基づいて、S8で選択した各水素結合性官能基と水素結合を形成し得る領域（水素結合性領域）を決定した後、適当な数（例えば5～20個）の三次元格子点を含む水素結合性領域を構成する三次元格子点の中心にダミー原子を配置する。ダミー原子は、該水素結合性領域内で他の原子のファンデルワールス半径外に配置される。水素結合性領域は、同じ水素結合性を有しており、かつ互いに隣接する一群の三次元格子点から構成される領域である。1個の水素結合性官能基から2個以上のダミー原子が設定される場合があり、逆に、1個のダミー原子も設定されない場合があることに留意すべきである。設定されたダミー原子の数が多い場合には、リガンド結合領域の内孔の奥深くにあって重要と思われるダミー原子のみを残すようにして、

10個以下、好ましくは5～10個に絞り込むことが好ましい。なお、ダミー原子には、その中心に該ダミー原子を配置した三次元格子点と同じ水素結合性を与えておく。

つぎに、化合物データベースに収納された分子構造の一つを選択し（S10）、選択した分子構造の三次元座標、水素結合性カテゴリー番号、分子力場計算用の情報および配座作成用の情報をS1で作成したADAM仕様データベースから読み込む（S11）。その後、ダミー原子と分子構造中の水素結合性ヘテロ原子との間に水素結合対応関係を付与する（S12）。ダミー原子の数を m 個、分子構造中に存在する水素結合性ヘテロ原子の数を n 個とすると、 i 個の水素結合を形成する対応関係（組合せ）の数 $N(i)$ は、 ${}_m P_i \times {}_n C_i$ （式中、 P は順列、 C は組合せを表す）個となる。ダミー原子と、分子構造中の水素結合性ヘテロ原子の可能な組合せをすべて選択することが好ましい。

その後、 $l_{\min} \leq i \leq l_{\max}$ の関係を満たすすべての i について、S12～S29のステップを繰り返す。その結果、ダミー原子と分子構造中に存在する水素結合性ヘテロ原子との間で、

$$\sum_{i=l_{\min}}^{l_{\max}} N(i)$$

個の組合せがすべて選択されることとなる。この操作によって、生体高分子と分子構造とにより形成される水素結合の全組合せが選択されることになり、生体高分子と分子構造との結合様式を系統的かつ効率的に探索できるようになる。 l_{\min} としてはダミー原子と水素結合性ヘテロ原子の数のうち小さい方、 l_{\max} としてはダミー原子と水素結合性ヘテロ原子の数のうち大きい方の数を採用することが好ましい。

上記の工程を具体的に説明すると、S12で対応関係をつけた、ダミー原子と分子構造中の水素結合性ヘテロ原子との組合せの一つを選択する（S13）。この際、ダミー原子の水素結合性と分子構造中の水素結合性ヘテロ原子の水素結合性とが一致しない組合せは選択しない。つぎに、S13で選択した組合せに含まれるダミー原子について、各ダミー原子間の距離を算出する（S14）。なお、ダミー原子の数及び分子構造中の水素結合性ヘテロ原子の数の両方が1個の場合は、S14～S21

のステップを行わずに S22 のステップへ飛び、次いで、S23～S25 のステップを行わずに S26 のステップへ飛ぶ。また、ダミー原子の数又は分子構造中に存在する水素結合性ヘテロ原子の数のどちらか一方が 1 個の場合は、S14～S21 のステップを行わずに S22 のステップへ飛ぶ。

つぎに、分子構造を水素結合性部分と非水素結合性部分とに分割し (S15)、S15 で分割した分子構造の水素結合性部分についてねじれ回転が可能な結合とその回転の様式を選択する (S16)。その後、S16 で選択した結合を、S1 で作成した ADAM 仕様三次元データベースに入力されている結合回転様式に従って回転させ、分子構造の配座を順次生成させる (S17)。そして、生成した配座毎に以後の S18～S29 のステップを繰り返す。

これらのステップの詳細は以下のとおりである。S17 で生成した配座について、S13 で選択した組合せに含まれる分子構造中の各水素結合性ヘテロ原子の原子間距離を算出する (S18)。S14 で得られたダミー原子の原子間距離と S18 で得られた対応する分子構造中の水素結合性ヘテロ原子の原子間距離との差の 2 乗の和である F の値が一定の範囲以上となる水素結合組合せと配座を除去する (S19)。すなわち、

$$F = \sum_j^{\frac{n(n-1)}{2}} (r_{li} - r_{di})^2$$

とした場合、 $k_a \leq F \leq k_a'$ (式中、n は水素結合の数を示し、 r_{di} は i 番目のダミー原子間距離を示し、 r_{li} は分子構造中の水素結合性ヘテロ原子の i 番目の原子間距離を示し、 k_a は F の下限値を示し、 k_a' は F の上限値を示す) である水素結合組合せ以外のものを除去する。上記 k_a としては、0.6～0.8、 k_a' としては、1.2～1.4 が好ましい。このステップにより、生体高分子と分子構造の水素結合様式及びリガンド分子の配座の可能性を効率的に網羅することができる。

その後、S19 で除去されなかった水素結合組合せと配座について、前記の F の値が最小になるように分子構造の水素結合性部分の配座を最適化する (S20)。このステップにより、生体高分子と分子構造が安定な水素結合を形成するように、分子構造の配座が修正される。分子構造の水素結合性部分に存在するねじれ回転

可能な結合のねじれ角を変数として、前記の関数 F の値を Fletcher-Powell 法 (Fletcher, R., Powell, M. J. D., Computer J., 6, 1968, p. 163) を用いて最小化することにより、分子構造の水素結合性部分の配座を最適化することができる。

ついで、S20のステップで最適化した分子構造の水素結合性部分の分子内エネルギーを算出して、該分子内エネルギーの値が一定値以上の配座を除去する (S21)。例えば、AMBER 4.0 の分子力場を用いて分子構造の水素結合性部分の分子内エネルギーを算出した場合、該分子内エネルギーが 100 Kcal/mol 以上となった配座を除去することが好ましい。その後、上記の S21 までのステップで得られた配座を有する分子構造の水素結合性ヘテロ原子の座標と対応するダミー原子の座標とが一致するように、分子構造の原子座標を生体高分子の座標系に置き換える (S22)。このステップには、Kabsh の最小二乗法 (Kabsh, W., Acta Cryst., A32, 1976, p. 922; Kabsh, W., Acta Cryst., A34, 1978, p. 827) を用いることができる。この操作により、可能な水素結合様式と分子構造の水素結合性部分の配座とを同時に粗く推定することが可能になる。

上記ステップに続いて、生体高分子と分子構造の水素結合性部分との分子間相互作用エネルギー (ファンデルワールス相互作用エネルギー及び静電相互作用エネルギーの和)、及び分子構造の水素結合性部分についての分子内エネルギーを算出する (S23)。生体高分子と分子構造の水素結合性部分との分子間相互作用エネルギー E_{inter} は、分子構造中の各原子 k に最も近い三次元格子点の格子点情報のファンデルワールス相互作用エネルギー $G_{vdw}(k)$ 及び静電相互作用エネルギー $G_{elc}(k)$ を用いて、以下の式 (式中、 q_k は原子 k の電荷を表す) から算出することができる。

$$E_{inter} = \sum_K \{ G_{vdw}(k) + G_{elc}(k) \cdot q_k \}$$

また、分子構造の水素結合性部分の分子内エネルギー E_{intra} は、既知の方法に従って算出することができる。例えば、 E_{intra} は AMBER4.0 等の公開された力場を用いて、以下の式 (式中、 V_n はねじれ角を構成する 4 つの原子の原子タイプの並びに対して与えられている定数を示し、 n はねじれ角回転に対するポテンシャル

ルの対称性を表す定数を示し、 Φ はねじれ角を示し、 γ はねじれ角回転に対するポテンシャルの位相（ねじれ角を構成する4つの原子の原子タイプの並びに対して与えられている）を示し、 A_{ij} と B_{ij} は分子構造中の*i*番目と*j*番目の原子の原子タイプの対に対して設定された定数を示し、 R_{ij} は*i*番目と*j*番目の原子間の距離を示し、 q_i は分子構造中の*i*番目の原子の電荷を示し、 q_j は分子構造中の*j*番目の原子の電荷を示し、 ϵ は誘電率を示す）により算出できる。

$$E_{\text{intra}} = \sum_{\text{Dihedrals}} \sum_n V_n / 2 \{1 + \cos(n\Phi - \gamma)\} \\ + \sum_{i < j} (A_{ij} / R_{ij}^{12} - B_{ij} / R_{ij}^6) + \sum_{i < j} (q_i q_j / \epsilon R_{ij})$$

S23で算出された分子間相互作用エネルギーと分子内エネルギーとの和が一定値以上となった分子構造の配座を除去する（S24）。例えば、上記のエネルギーの和が分子量100当たり10 kcal/mol以上となった配座を除去することが好ましい。その後、S24で除去されなかった配座を有する分子構造の水素結合性部分の構造を最適化する（S25）。構造最適化計算を行い分子構造の水素結合性部分のねじれ角、並びに分子構造の位置及び方向を最適化することにより、分子構造の水素結合性部分の構造を最適化することができる。

例えば、以下の式：

$$E_{\text{total}} = E_{\text{inter}} + E_{\text{intra}} + W_{\text{hb}} \cdot N_{\text{hb}} \cdot Chb$$

〔式中、 E_{inter} 及び E_{intra} は前記のとおりであり、 W_{hb} は重み、 N_{hb} は水素結合の数、及び Chb は1個の水素結合による安定化エネルギー（例えば、2.5 kcal/mol）を示す〕から算出される全エネルギー E_{total} が最小となるように、Powell法（Press, W.H., Flannery, B.P., Teukolsky, S.A., Vetterling, W.T., Numerical Recipes in C, Cambridge University Press, Cambridge, 1989）等を用いて分子構造の水素結合性部分の構造を最適化することができる。

ついで、分子構造の非水素結合性部分の結合回転が可能な結合をS1で作成したADAM仕様三次元データベースに入力されている結合回転様式に従って回転させて分子構造の配座を順次生成させ（S26）、生成した配座毎に以後のS27～S29のステップを繰り返す。具体的には、生体高分子と分子構造との分子間相互作用

エネルギー、及び分子構造の分子内エネルギーを算出し（S27）、S27で算出された分子間相互作用エネルギーと分子内エネルギーとの和が一定値以上となった分子構造の配座を除去する（S28）。その後、S28で除去されなかった配座を有する分子構造全体の構造を最適化し（S29）、S29までのステップで得られた生体高分子-分子構造の複合体構造のエネルギーを算出して該エネルギーが最小である最安定の複合体構造を選択する（S30）。

分子間相互作用エネルギー及び分子内エネルギーはS23と同様の方法で算出できる（ただし、S23では分子構造の水素結合性部分についてのみ計算を行うが、S27では分子構造全体について計算を行う必要がある）。また、上記のエネルギーの和の上限値としては、分子量 100あたり10kcal/mol が好ましい。このステップにより、生体高分子と分子構造の安定な複合体、及び分子構造の活性配座が得られる。分子構造の最適化はS25のステップと同様の方法で行うことができる（ただし、S25では分子構造の水素結合性部分の構造のみ最適化を行うが、S29では分子構造全体について構造の最適化を行う必要がある）。

S30で得られた最安定の複合体構造における生体高分子と分子構造との分子間相互作用エネルギー、分子構造の分子内エネルギーの値、水素結合数、及び環の数などの基準のすべてあるいはいくつかに基づき、該分子構造をリガンド候補分子構造として選択するか否かを判定する（S31）。分子間相互作用エネルギーとしては、静電相互作用エネルギー、ファンデルワールス相互作用、水素結合エネルギー、及びそれらの和を挙げることができる。例えば、静電相互作用エネルギーとファンデルワールス相互作用との和が分子量100 あたり-2 kcal/mol以下の分子構造分子をリガンド候補分子構造として選択することが好ましい。その後、すべての分子構造を選択したか否かを判定し（S32）、すべての分子構造を選択していない場合にはS10のステップに戻ってS10～S31のステップを繰り返し、選択した場合にはS33のステップに進む。

S31で選択されたリガンド候補分子構造の中からより有望なリガンド候補分子構造への絞り込みを行う（S33）。この絞り込みに先立って、リガンド候補分子構造の情報（例えば、生体高分子と分子構造の分子間相互作用エネルギー、分子構造の分子内エネルギーの値、水素結合数、及び環の数等）のリストを出力して、

絞り込みの基準を決定すると便利である。例えば、生体高分子とリガンド候補分子構造との間で形成されうる水素結合の数、生体高分子とリガンド候補分子構造の分子間相互作用エネルギーの値、及び原子数等を基準として上記の絞り込みを行うことが好ましい。

分子間相互作用エネルギーとしては、静電相互作用エネルギー、ファンデルワールス相互作用、及びそれらの和を挙げることができる。例えば、静電相互作用エネルギーとファンデルワールス相互作用の和が分子量100 あたり -8 kcal/mol以下の分子構造分子を有望なリガンド候補分子構造として絞り込むことが好ましい。水素結合の数は生体高分子の種類により任意の数を設定できるが、例えば2以上、好ましくは3以上を設定することが望ましい。原子数も任意の数を設定できるが、例えば20個以上、好ましくは20~40個の範囲を設定可能である。

生体高分子から非常に多くのダミー原子が作成される場合、あるいは分子構造がかなり大きな配座の自由度を有するか又は多くのヘテロ原子を有する場合には、S 9のステップで分子構造に関する情報を入力した後、分子構造の部分構造についてS 13~S 25までのステップを行い、その部分構造中で不可能な水素結合様式を与えるダミー原子と分子構造中の水素結合性ヘテロ原子との組合せ、及びダミー原子と水素結合を形成し得ない分子構造中の水素結合性ヘテロ原子についての情報を保存する。分子構造の部分構造はいかなる構造的な制約を受けることなく任意に決めることができるが、3個以上の水素結合性官能基を含む構造部分が好ましい。なお、その構造部分の配座の自由度の有無は無視してもよい。

上記ステップに続いて分子構造の全体構造についてS 13~S 33のステップを行うが、前記ステップで保存された水素結合性ヘテロ原子を含む組合せ及びダミー原子と水素結合性ヘテロ原子との組合せをS 12のステップで作成される対応関係の組合せから除く。この結果、試行する組合せ及び配座の数を減じることができ、生体高分子-分子構造の安定複合体の構造探索に要する時間が大幅に短縮される(上記方法をPre-Pruning 法: PP法と呼ぶ場合がある)。PP法は、分子構造の部分構造において不可能な水素結合様式やリガンド配座は分子構造の全体構造においても不可能であるという仮説に基づいている。このPP法を採用することにより、得られる生体高分子-分子構造の複合体構造の精度や信頼性に全く影響を与えるこ

となく探索時間を大幅に短縮することが可能である。

産業上の利用可能性

本発明により、コンピューターを用いて医薬や農薬に有用な生理活性物質を効率的に創製することができる。本発明の方法に利用されるデータベースは偏りのない分子構造を極めて多数収納しているので、一回の抽出工程により極大の生理活性を有する至適分子構造を選出することが可能である。

請 求 の 範 囲

1. コンピューターを用いた生理活性化合物の創製方法であって、下記の工程：
 - (1) 基本分子骨格上に存在する修飾可能部位から選択された1又は2以上の置換部位と利用可能な置換基との全ての組み合わせを網羅した分子構造が収納された化合物データベースを作成する工程、及び
 - (2) 生理活性を発揮するために必要な条件を満たす分子構造を該化合物データベースから抽出する工程を含む方法。
2. 基本分子骨格として、所望の生物活性を有する既知リガンドの分子骨格又はその類似分子骨格を用いる請求の範囲第1項に記載の方法。
3. 基本分子骨格として、構造自動構築法により生成された1又は2以上のリガンド候補の分子骨格又はその類似分子骨格を用いる請求の範囲第1項に記載の方法。
4. 基本分子骨格として、多様な分子骨格を持つ化合物群を含む化合物データベースからプログラム「ADAM&EVE」により選択された1又は2以上のリガンド候補の分子骨格又はその類似分子骨格を用いる請求の範囲第1項に記載の方法。
5. 組み合わせ的に作出された2以上の基本分子骨格を用いる請求の範囲第1項に記載の方法。
6. 組み合わせによる基本分子骨格の作出が、修飾可能部位を有する1又は2以上の構造ユニットと1又は2以上のコネクターとを網羅的に組み合わせる工程を含む方法により行われる請求の範囲第5項に記載の方法。
7. 組み合わせによる基本分子骨格の作出が、以下の工程：
 - (E) 利用可能な構造ユニットの中から1又は2以上の構造ユニットを選択する工程；
 - (F) 各構造ユニットについて使用条件を必要に応じて付加する工程；
 - (G) 利用可能なコネクターの中から1又は2以上のコネクターを選択する工程；及び
 - (H) 結合すべき構造ユニットの数の上限及び下限を設定し、上記の工程(E)と工程(G)で選択した全ての構造ユニット及びコネクターについて、上記の工程(F)で使

用条件が付加されている場合にはその範囲内で、全ての可能な組み合わせを網羅して1又は2以上の基本分子骨格を作出する工程

を含む方法により行われる請求の範囲第6項に記載の方法。

8. 上記(2)の抽出工程を、標的となる生体高分子のリガンド結合領域と分子構造との相互作用から生体高分子に結合可能な分子構造を抽出する工程を含む方法により行なう請求の範囲第1項ないし第7項のいずれか1項に記載の方法。

9. 上記(2)の抽出工程を、生体高分子への結合様式と化合物のコンフォメーションの自由度とを考慮して両者の最安定な複合体構造を検索する工程を含む方法により行う請求の範囲第8項に記載の方法。

10. 上記(2)の抽出工程を、生体高分子に結合可能であることが確認又は推定されたりガンド分子の構造と生体高分子への結合様式に基づいて、該生体高分子に結合可能な分子構造を抽出する工程を含む方法により行う請求の範囲第1項ないし第7項のいずれか1項に記載の方法。

11. 上記(2)の抽出工程を、少なくとも化合物の原子タイプ及び共有結合様式を情報として含むデータベースから受容体である生体高分子に結合可能なリード候補化合物をコンピュータを用いて選択する方法であって、生体高分子に結合可能な1または2以上の質問分子についての原子タイプ及び共有結合様式の情報を基にしてデータベースに収納された化合物とのマッチングを行いリード候補化合物を選択する工程を含む方法により行う請求の範囲第1項ないし第7項のいずれか1項に記載の方法。

12. 上記(2)の抽出工程を、所望の生物活性を有することが確認又は推定された化合物の分子構造または該化合物中の官能基の配置に基づいて該化合物との類似性を判断する方法により行う請求の範囲第1項ないし第7項のいずれか1項に記載の方法。

13. コンピューターを用いたデータベース検索法による生理活性化合物の創製方法に用いられる三次元データベースであって、基本分子骨格上に存在する修飾可能部位から選択された1又は2以上の置換部位と利用可能な置換基との全ての組み合わせを網羅した分子構造が収納されたデータベース。

14. 基本分子骨格として所望の生物活性を有する既知リガンドの分子骨格又はその

類似分子骨格を用いて作成された請求の範囲第13項に記載のデータベース。

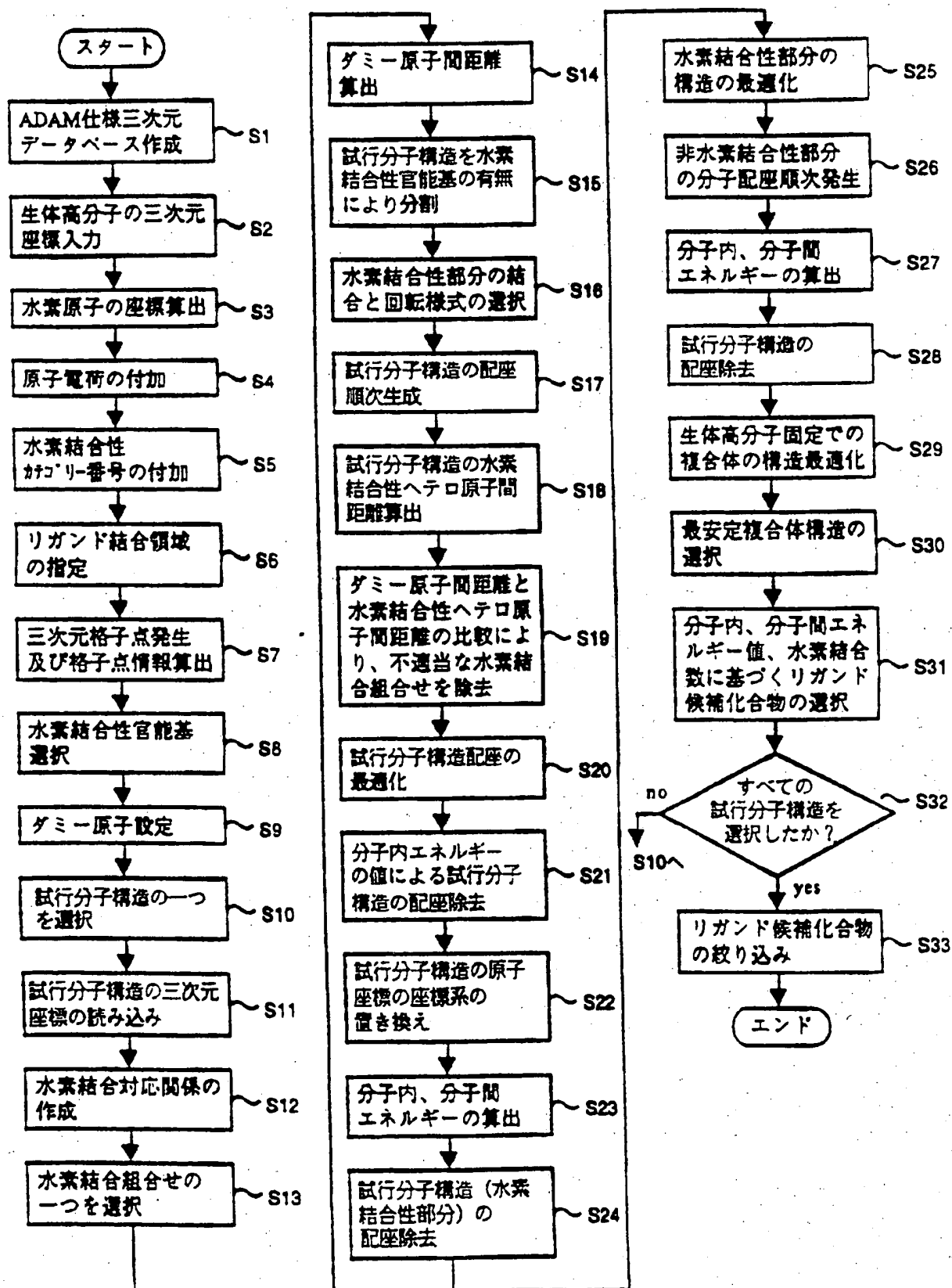
15. 基本分子骨格として構造自動構築法により生成されたりガンド候補の分子骨格又はその類似分子骨格を用いて作成された請求の範囲第13項に記載のデータベース。

16. 基本分子骨格として化合物データベースからプログラム「ADAM&EVE」により選択されたりガンド候補の分子骨格又はその類似分子骨格を用いて作成された請求の範囲第13項に記載のデータベース。

17. 組み合わせ的に作出された2以上の基本分子骨格を用いて作成された請求の範囲第13項に記載のデータベース。

18. 請求の範囲第13項ないし第17項のいずれか1項に記載のデータベースを格納した記憶媒体。

第1図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP96/03866

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ C07B61/00, G06F17/50, 17/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ C07B61/00, G06F17/50, 17/30

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| A | WO, 93/20525, A1 (Akiko Itai), October 14, 1993 (14. 10. 93) & EP, 633534, A1 | 1 - 12 |
| A | Tetrahedron, Vol. 47, No. 43 (1991), Yoshihiko Nishibata, et al. "Automatic Creation of Drug Candidate Structures Based on Receptor Structure. Starting Point of Artificial Lead Generation.", p. 8985-8990 | 1 - 12 |
| A | Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 37, No. 9 (1994), Mark A. Gallop, et al. "Applications of Combinatorial Technologies to Drug Discovery. 1. Background and Peptide Combinatorial Libraries", p. 1233-1251 | 1 - 12 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
March 31, 1997 (31. 03. 97)

Date of mailing of the international search report
April 8, 1997 (08. 04. 97)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office
Facsimile No.

Authorized officer
Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP96/03866

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 13 to 18
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
In other words, claims 13 to 18 pertain to data base and are considered to be mere presentations of information. Therefore, they pertain to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(v) of the Regulations under the PCT, to search.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int.Cl¹ C07B61/00, G06F17/50, 17/30

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int.Cl¹ C07B61/00, G06F17/50, 17/30

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| A | WO, 93/20525, A1 (板井昭子), 14. 10月, 1993 (14. 10. 93) & EP, 633534, A1 | 1-12 |
| A | Tetrahedron, Vol.47, No.43(1991), Yoshihiko Nishibata, et al 「Automatic Creation of Drug Candidate Structures Based on Receptor Structure. Starting Point for Artificial Lead Generation.」, p.8985-8990 | 1-12 |
| A | Journal of Medicinal Chemistry, Vol.37, No.9(1994), Mark A. Gallop, et al 「Applications of Combinatorial Technologies to Drug Discovery. 1. Background and Peptide Combinatorial Libraries」, p.1233-1251 | 1-12 |

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

31. 03. 97

国際調査報告の発送日

08.04.97

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

西川 和子

印

4H

7419

電話番号 03-3581-1101 内線 3444

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの1の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 13-18 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、

請求の範囲13-18は、データベースに関するものであって、情報の単なる提示であると考えられるから、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(v)の規定により、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。

2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの2の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。